

绿肥翻压接种丛枝菌根真菌和深色有隔内生真菌对玉米生长及氮素利用的影响

毕银丽^{1,2*}, 张家毓¹, 王 坤¹, 杜善周³

(1. 中国矿业大学(北京)地球科学与测绘工程学院, 北京 100083; 2. 西安科技大学地质与环境学院, 西安, 710054;
3. 神华准格尔能源有限责任公司, 鄂尔多斯, 010399)

摘要:【目的】绿肥作为生物肥料, 加入土壤后如何提高植物对绿肥利用效率及氮转化效率一直是热点研究课题。本文使用新鲜苜蓿 (*Medicago sativa*) 作为绿肥, 接种丛枝菌根真菌 (Arbuscular Mycorrhizal Fungi, AMF) 和深色有隔内生真菌 (Dark Septate Endophytes, DSE), 探究利用微生物接种提高植物对绿肥利用效率和促进氮素转化的方法。【方法】本研究在温室条件下, 采用玉米 (*Zea mays* L.) 作为供试植物, 使用新鲜苜蓿 (*Medicago sativa*) 作为绿肥, 并接种 AMF 和 DSE。试验设置 4 个处理: 绿肥 (L); 绿肥 + AMF (L + A); 绿肥 + DSE (L + D); 绿肥 + DSE + AMF (L + D + A)。【结果】AMF 和 DSE 可以同时定殖玉米植株; 接种真菌处理均显著提高玉米株高与生物量, 其中 L + D 处理效果最好, 株高与干重的值分别为 86.25 cm、41.893 g 每盆。L + D 处理较其它接菌处理对植物全氮、绿肥的利用效率促进作用最为显著, 最大值分别为 585.27 mg、76.50%, 且 L + D 处理下土壤硝氮、铵氮含量、脲酶活性最高, 分别为 0.201 g kg⁻¹、0.339 g kg⁻¹ 以及 81.51 μg kg⁻¹ 24 h⁻¹。接种 AMF 处理土壤全氮含量均显著高于其不接种 AMF 处理, 同时接种 AMF 和 DSE 对玉米生长产生一定程度抑制作用。【结论】绿肥接种深色有隔内生真菌在植物生物量及营养利用等方面略好于接种丛枝菌根真菌, 而双接菌处理需进一步研究证明协同或竞争关系。该结果为利用微生物技术提高绿肥在土壤中的利用效率及促进氮素的转化提供理论依据。

关键词: 绿肥; 丛枝菌根真菌; 深色有隔内生真菌; 植物对绿肥利用效率; 氮转化率

中图分类号: X751 **文献标识码:** A **文章编号:** 0564-3945(2022)04-0890-07

DOI: 10.19336/j.cnki.trtb.2021042401

毕银丽, 张家毓, 王 坤, 杜善周. 绿肥翻压接种丛枝菌根真菌和深色有隔内生真菌对玉米生长及氮素利用的影响 [J]. 土壤通报, 2022, 53(4): 890 - 896

BI Yin-li, ZHANG Jia-yu, WANG Kun, DU Shan-zhou. Nitrogen Conversion Rate of Maize after Inoculation with Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Dark Septate Endophytes[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2022, 53(4): 890 - 896

【研究意义】农业生产中, 化学肥料的施用增加了粮食作物产量, 但其可造成土壤退化和肥力下降、化肥利用效率低等诸多问题。绿肥作为清洁无害的生物肥料, 其养分含量丰富, 可为作物提供各种营养成分, 还有利于土壤中有有机碳、有机氮的矿化, 从而提高土壤微生物以及土壤酶类的活性^[1]。因此, 绿肥作为清洁无害的优质生物肥料可以保证农业生产环境的稳定和可持续发展, 降低农业生产成本和对化学肥料的依赖, 但绿肥存在利用率低, 不能被植物很好的吸收利用的问题, 故如何提高绿肥中难利用养分与活性养分之间的转化效率一直为农业研究关注的热点问题之一。【前人研究进展】丛枝菌根真菌 (Arbuscular Mycorrhizal Fungi, AMF)

是自然界中普遍存在的土壤微生物, 能与大部分陆生植物形成互惠互利的菌根共生体。在这种共生关系中, AMF 从植物获取自身生长所需碳源的同时, 帮助宿主吸收氮、磷等营养物质^[2]。Wang 等^[3]研究表明接种摩西管柄囊霉 (*Funneliformis mosseae*) 使植物地上部分氮含量增加 15%, 且在中等盐分条件下, 能促进根系生长和氮素吸收。贾燕燕^[4]等通过盆栽试验表明, 接菌 AMF 显著促进秸秆还田过程中麦秆的分解, 提高土壤微生物量和分解酶活性。Cheng 等^[5]研究表明, AMF 的生长会导致复杂有机物质的分解, CO₂ 浓度增加, 并改变植物吸氮量。深色有隔内生真菌 (Dark Septate Endophytes, DSE) 是一类广泛存在于根的表皮、皮层甚至维管束组织的细胞

收稿日期: 2021-04-27; 修订日期: 2022-02-28

基金项目: 国家自然科学基金 (51974326) 和首都科技领军人才 (Z18110006318021) 资助

作者简介: 毕银丽 (1971-), 女, 陕西米脂, 长江学者特聘教授, 从事矿山生态修复。E-mail: ylb88@126.com

*通讯作者: E-mail: ylb88@126.com

内或细胞间隙并形成深色有隔菌丝的真菌。与菌根真菌相似, DSE 与宿主植物可形成互惠共生的关系, 促进宿主吸收氮、磷元素, 增加宿主生物量, 提高宿主的抗逆性(抗旱、抗寒、抗重金属等)和抗病能力^[6]。Vergara 等^[7]研究表明, DSE 在促进水稻生长、促进分蘖和养分吸收(尤其是使 N 和 P 吸收亲和力增强)方面具有很高的应用潜力; Narisawa 等进一步论证了 DSE 能够降解土壤中的有机碳、氮、磷等化合物以及 DSE 在自然界的营养循环中发挥重要作用^[8]。关于 AMF 或 DSE 的生理生态功能以及它们各自单独的接种效应, 已有广泛的研究和报道^[6,9-10], 但对二者共同侵染植物后的生理生态响应研究较少。高春梅^[9]等探究丛枝菌根真菌和深色有隔内生真菌组合菌剂对南方根结线虫发育、侵染、黄瓜根结线虫病以及黄瓜生长发育的影响, 结果表明, AMF + DSE 组合处理的菌根和 DSE 的定殖数量、株高、茎粗、地上部和根系干重、单株产量等显著优于单接种 AMF 或单接种 DSE 处理, 为进一步探索 AMF 和 DSE 协同发挥生理生态效应的作用机制奠定基础。

【本研究切入点】基于缺少 AMF 和 DSE 双接菌对绿肥氮转化效率影响的相应研究, 以及 AMF 与 DSE 对提高绿肥利用效率的可能巨大潜力。**【拟解决问题】**本文研究两种真菌在单接种及双接种条件下对苜蓿绿肥的降解转化效率的影响, 为提高绿肥利用率和有效氮转化率的微生物处理技术提供研究

依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验在中国矿业大学(北京)微生物复垦实验室温室进行盆栽试验, 试验所采用 AMF 和 DSE 菌种分别为摩西管柄囊霉(*Funneliformis mosseae*, F.M)和链格孢菌(*Alternaria* sp.), 均由本实验室扩繁所得。其中, AMF 菌剂的制备方法为摩西管柄囊霉接种至灭菌沙土基质的玉米植株根部进行扩繁, 得到摩西管柄囊霉菌剂。摩西管柄囊霉菌剂包含孢子、根外菌丝和被侵染根段, 孢子密度为 66 个 g^{-1} , 侵染率为 85%, 菌丝长度为 4.66 $m g^{-1}$; DSE 菌液的制备方法为, 将 DSE 菌株接种至 PDA 固体培养基, 28 $^{\circ}C$ 黑暗倒置培养 14 d, 得到 DSE 菌落, 无菌条件下在 DSE 菌落上取一个菌饼, 然后置于 MMN 液体培养基, 28 $^{\circ}C$ 、170 $r min^{-1}$ 震荡培养 15 d, 得到 DSE 培养菌液。1 mL DSE 培养菌液中纯 DSE 菌株干物质质量为 3.11 mg。

供试玉米品种为品糯 28, 中国农科院中农种子公司提供。供试土壤为从内蒙古准能集团黑岱沟露天煤矿北排土场采集的表土(0~20 cm), 土壤风干后过 5 mm 筛子, 供试土壤的基本理化性质见表 1。绿肥为新鲜种植的处于营养生长期苜蓿, 生长期为 1 个月。

表 1 供试土壤的基本理化性质
Table 1 Basic physical and chemical properties of the experimental soil

pH	有机质 ($g kg^{-1}$) Organic matter	全氮 ($g kg^{-1}$) Total nitrogen	电导率 ($\mu s cm^{-1}$) Electric conductivity
8.33	22.17	0.15	173.6

1.2 试验设计

为模拟野外环境, 盆栽试验用土未进行高压蒸汽灭菌。每盆装土 5 kg。选取饱满一致的玉米种子经双氧水消毒, 然后在 DSE 菌液中浸泡 1 d, 其它处理的玉米种子则在灭活 DSE 菌液中浸泡相同时间后播种, 每盆播种 3 粒。接种 AMF 菌剂为 100 g, 将菌剂与盆中的中层土壤混合均匀后将种子置于土壤之上, 随后覆盖约 5 cm 的表层土壤。将生长期为 1 个月的新鲜苜蓿取地上部分, 剪成 1 cm 长度的短条, 每盆按 5 g 埋到距离表层土 5 cm 处。施用底肥为 N (NH_4NO_3) 100 $mg kg^{-1}$, P (KH_2PO_4) 30 $mg kg^{-1}$, K (KNO_3) 150 $mg kg^{-1}$ 。

试验设 4 个处理, 分别为单独施用绿肥(绿肥 + 灭活 AMF 菌剂 + 灭活 DSE 菌液浸泡; L)、绿肥 + AMF(绿肥 + AMF 菌剂 + 灭活 DSE 菌液浸泡; L + A)、绿肥 + DSE(绿肥 + 灭活 AMF 菌剂 + DSE 菌液浸泡; L + D)和绿肥 + DSE + AMF(绿肥 + AMF 菌剂 + DSE 菌液浸泡; L + D + A), 每处理设 4 个重复, 共计 16 盆, 随机排列。

试验在日光温室中进行, 玉米在生长期温度维持 18~30 $^{\circ}C$, 每天光照时间 10 h。玉米出苗后每盆定植 1 株。

1.3 测定指标与方法

玉米生长 60 d 后, 分别收获植株地上部和地下

部,其中地上部分用钢卷尺测量株高,根系清洗干净备用。AMF 侵染率和 DSE 侵染率均采用碱解离-酸性品红染色法测定^[11],采用玻片镜检测定侵染根段数,并计算出菌根侵染率;盆栽土壤倒出后混匀风干后,过 2 mm 筛用于理化性质测定,土壤 pH 值(水土比 2.5:1)和电导率用电位法(水土比 5:1);土壤全氮采用凯氏定氮法测定^[12];硝氮铵氮采用连续流动分析仪测定;有机质采用重铬酸钾外加热法测定^[13];脲酶采用为苯酚钠-次氯酸钠比色法测定^[14]。

1.4 数据分析方法

植物对绿肥的利用效率及氮有效转化率分别采用公式(1)和(2)来计算:

$$K_1 = Y/(X_0 + L) \quad (1)$$

$$K_2 = (X_1 + X_2)/(X_0 + L) \quad (2)$$

式中: K_1 为植物对绿肥利用效率, K_2 为氮有效转化率, Y 为各处理玉米的全氮含量, X_0 为供试土样的全氮含量, L 为绿肥全氮含量 (0.633 mg g^{-1}), X_1 为各处理土壤硝态氮含量, X_2 为各处理土壤铵态氮含量。试验所有试验数据使用 Excel 2010 进行均值

和标准差计算;采用统计分析软件 SPSS 软件进行差异显著性分析与双因素方差分析(Two-way ANOVA)(LSD 检验法,显著性差异水平设置为 0.05)。

本文中菌根贡献率的计算采用以下公式^[15]:

$$\text{菌根贡献率}(\%) = \frac{\text{接菌植株指标数据} - \text{对照植株指标数据}}{\text{接菌植株指标数据}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 不同接菌处理对玉米根系真菌定殖率及生长的影响

由表 2 可见,只施用绿肥处理的玉米根系均有 AMF 和 DSE 定殖,表明供试土壤中存在土著的菌根真菌和链格孢菌;接种 AMF 处理玉米根系菌根定殖率显著均高于其不接种 AMF 处理;L + A 处理与 L + D + A 处理、L 处理与 L + D 处理玉米的菌根定殖率间均无显著差异,表明接种 DSE 对玉米的菌根定殖无显著影响 ($P < 0.05$);接种 AMF 使玉米根系 DSE 定殖率降低,但与 L + D 处理间未达到差异显著性。

表 2 不同处理对真菌定殖率和玉米生长的影响

Table 2 Effects of different treatments on the colonization rates of fungi and corn growth

处理 Treatment	AMF定殖率(%) AMF colonization rate	DSE定殖率(%) DSE colonization rate	玉米株高(cm) Corn plant height	玉米生物量(g pot ⁻¹) Corn biomass
L	39.02 ± 3.75 b	18.89 ± 2.89 b	67.28 ± 3.35 c	23.717 ± 1.11 c
L + A	54.31 ± 3.07 a	17.84 ± 0.84 b	78.28 ± 5.25 b	29.803 ± 3.43 b
L + D	37.51 ± 1.15 b	39.29 ± 5.19 a	86.25 ± 1.94 a	41.893 ± 2.49 a
L + D + A	54.09 ± 4.76 a	34.85 ± 4.76 a	78.72 ± 3.31 b	31.143 ± 1.07 b
AMF	***	*	ns	*
DSE	ns	***	***	***
AMF*DSE	ns	ns	***	***

注:同列数据后不同小写字母表示各处理间具有显著差异 ($P < 0.05$)。ns: $P > 0.05$, *: $0.01 \leq P < 0.05$, **: $0.001 \leq P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

由表 2 可见,无论是对玉米株高还是玉米生物量,接种真菌处理均显著促进玉米的生长 ($P < 0.05$);单独接种链格孢菌(L + D)较其它接菌处理对玉米生长的促进作用最为显著 ($P < 0.05$),较 L + A 处理与 L + D + A 处理玉米生物量分别提高了 40.57% 和 34.52%,株高分别提高了 10.18% 和 9.57%,表明接种 DSE 对玉米生长具有显著的促进作用,这可能是由于其能分泌释放植物激素、产生可溶性和挥发性有机化合物或通过呼吸作用产生的 CO_2 增强光合作用,起到刺激植物生长,使植物生物量显著增加^[16]。同时接种 AMF 和 DSE 对玉米的生长具有显著的抑制作用,其较 L + D 处理的玉米生物量和株

高分别可显著降低 25.66% 和 8.73%,而与 L + A 处理相比,则对玉米生长的影响无显著差异性。由此可见,AMF 和 DSE 同时接种对玉米生长的影响作用受 DSE 定殖的影响更为明显。

2.2 不同接菌处理对玉米氮利用效率和土壤氮有效转化率的影响

表 3 为不同处理玉米氮含量及土壤全氮、硝态氮和铵态氮的含量,可以看出,无论是植物全氮还是土壤全氮,接种真菌处理可以提高其含量;单独接种链格孢菌(L + D)较其它接菌处理对植物全氮的促进作用最为显著 ($P < 0.05$),较 L + A 处理与 L + D + A 处理植物全氮含量分别提高了 31.59% 和

54.49%, L + D 与 L + A 处理植物全氮含量无显著性差异; 接种 AMF 处理土壤全氮含量均显著高于其不接种 AMF 处理 ($P < 0.05$), L + D 处理土壤全氮显著高于 L 处理 ($P < 0.05$), 表明在接种真菌处理下, 植物吸收较多氮素后导致土壤中全氮含量降低。接种 DSE 处理土壤硝氮含量均高于其不接种 DSE 处理, 但未达到显著性差异; 接种真菌处理均显著提高了

土壤铵氮的含量 ($P < 0.05$), 其中 L + D 处理中土壤铵氮含量最高, 表明, 接种真菌处理相比于 L 处理, 可能会促进土壤中氮转化, 增加有效氮含量, 为植物提供更多可直接利用的无机氮。同时接种 AMF 和 DSE 处理对土壤硝氮、铵氮含量具有抑制作用, 其较于 L + D 处理降低了 14.43% 和 6.19%, 但 L + D + A、L + D 和 L + A 三个处理间无显著性差异。

表 3 不同处理对玉米和土壤氮含量的影响
Table 3 Effects of different treatments on nitrogen contents of maize and soil

处理 Treatment	植物全氮(mg) Plant nitrogen	土壤全氮(g kg ⁻¹) Soil nitrogen	土壤硝氮(g kg ⁻¹) Soil NO ³⁻ -N	土壤铵氮(g kg ⁻¹) Soil NH ⁴⁺ -N
L	367.54 ± 97.07 b	0.040 ± 0.007 c	0.161 ± 0.021 a	0.274 ± 0.015 b
L + A	444.78 ± 74.06 ab	0.107 ± 0.017 a	0.161 ± 0.008 a	0.326 ± 0.027 a
L + D	585.27 ± 82.62 a	0.085 ± 0.007 b	0.201 ± 0.031 a	0.339 ± 0.025 a
L + D + A	378.85 ± 136.9 b	0.120 ± 0.005 a	0.172 ± 0.026 a	0.318 ± 0.031 a
AMF	ns	***	ns	ns
DSE	*	ns	ns	ns
AMF*DSE	**	ns	ns	ns

注: 同列数据后不同小写字母表示各处理间具有显著差异 ($P < 0.05$)。ns: $P > 0.05$, *: $0.01 \leq P < 0.05$, **: $0.001 \leq P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

按 1.4 植物对绿肥利用效率及有效氮的转化率的计算公式, 不同处理玉米对绿肥利用效率和氮有效转化率进行量化分析结果见表 4。由表 4 可知, 接种真菌处理均显著提高植物对绿肥利用效率 ($P < 0.05$), 其中单独接种链格孢菌 (L + D) 较其它接种菌处理绿肥利用效率最为显著 ($P < 0.05$), 同时接种 AMF 和 DSE 处理较 L + D 处理显著降低了 27.67%, 而与 L + A 处理相比, 则对绿肥利用效率

无显著性影响。由此可见, AMF 和 DSE 同时接种对绿肥利用效率的影响作用受 DSE 的影响更为明显。接种真菌处理均提高氮有效转化率, 接种 AMF 处理氮有效转化率均高于其不接种 AMF 处理, 但未达到显著性水平。通过对 K_1 、 K_2 值的计算, 表明 L + D 处理对绿肥利用效率的促进作用最为显著, L + A 处理氮有效转化率为最高, L + D + A 处理在绿肥利用效率和氮有效转化率方面均表现出抑制作用。

表 4 不同处理间植物对绿肥利用效率和氮有效转化率
Table 4 Green manure utilization rate and available nitrogen conversion rate between different treatments

处理 Treatment	绿肥利用效率 (K_1 , %) Green manure utilization rate	氮有效转化率 (K_2 , %) Effective nitrogen conversion
L	33.74 ± 11.08 c	2.976 ± 0.20 a
L + A	54.40 ± 7.20 b	3.739 ± 1.27 a
L + D	76.50 ± 10.81 a	3.527 ± 0.35 a
L + D + A	55.33 ± 8.67 b	3.654 ± 0.69 a
AMF	ns	ns
DSE	***	ns
AMF*DSE	***	ns

注: 同列数据后不同小写字母表示各处理间具有显著差异 ($P < 0.05$)。ns: $P > 0.05$, *: $0.01 \leq P < 0.05$, **: $0.001 \leq P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

2.3 不同处理对土壤酶活性的影响

不同处理对脲酶影响见表 5。接种 DSE 处理土壤脲酶活性均显著高于不接种 DSE 处理 ($P < 0.05$), 单独接种链格孢菌 (L + D) 较其它接种菌处理对土壤脲酶活性的提高最为显著 ($P < 0.05$), 较 L + A 处理与 L + D + A 处理分别提高了 98.32% 和 16.21%; L + D 与 L + D + A、L + A 与 L 处理的脲酶活性均无

显著性差异。

2.4 土壤碳氮比对土壤碳氮利用效率的影响

由表 6 可知, 接种真菌处理均显著提高了土壤有机质含量 ($P < 0.05$), 接种 DSE 处理均高于其不接种 DSE 处理, 但未达到显著性差异。与土壤本底值相比, 试验后有机质明显下降, 这可能与缺少枯落物等有机碳源的输入以及土壤微生物对有机质的

表 5 不同处理土壤脲酶活性
Table 5 Soil enzyme activities in different treatments

处理 Treatment	脲酶 ($\mu\text{g (kg 24 h)}^{-1}$) Urease	脲酶接菌处理贡献率(%) Contribution rate of urease inoculation treatment
L	46.49 ± 7.18 b	NA
L + A	41.10 ± 9.91 b	-21.73 ± 2.96 c
L + D	81.51 ± 3.17 a	43.12 ± 2.07 a
L + D + A	70.14 ± 6.67 a	33.59 ± 1.61 b
AMF	*	ns
DSE	***	ns
AMF*DSE	ns	ns

注: NA 为空; 同列数据后不同小写字母表示各处理间具有显著差异 ($P < 0.05$)。ns: $P > 0.05$, *: $0.01 \leq P < 0.05$, **: $0.001 \leq P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

消耗有关。在郭涛等^[17]试验中, 秸秆中碳素和氮素不同程度的释放, 进而影响了秸秆 C : N 的变化。一般认为, 较低的 C : N 比有利于玉米秸秆中矿质态养分的释放, 其值越高玉米秸秆越不易降解。由表 6 可知, 在本试验中, 接种真菌处理均有较低的 C : N,

但较 L 处理未达到显著性差异, 表明接种真菌处理有利于绿肥降解过程中碳素和氮素不同程度的释放, 增强微生物活性, 提高微生物分解有机碳氮能力, 降低土壤有机碳氮含量, 从而提高绿肥的利用效率。

表 6 不同处理土壤有机质含量和土壤碳氮比
Table 6 Soil organic matter content of different treatments and soil carbon/nitrogen ratio

处理 Treatment	有机质含量 (g kg^{-1}) Organic matter content	有机质接菌处理贡献率 (%) Contribution rate of organic matter inoculation	土壤碳氮比 Soil carbon/nitrogen ratio
L	2.12 ± 0.73 b	NA	53.00 ± 11.00 a
L + A	3.71 ± 1.07 ab	30.90 ± 3.88 b	46.79 ± 0.87 a
L + D	3.86 ± 0.91 ab	34.32 ± 6.83 b	42.32 ± 6.04 a
L + D + A	4.43 ± 1.23 a	47.56 ± 4.49 a	47.39 ± 4.29 a
AMF	ns	ns	ns
DSE	*	ns	ns
AMF*DSE	ns	ns	ns

注: NA 为空; 同列数据后不同小写字母表示各处理间具有显著差异 ($P < 0.05$)。ns: $P > 0.05$, *: $0.01 \leq P < 0.05$, **: $0.001 \leq P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 下同。

3 讨论

有机肥配施化肥减量可以提高玉米养分吸收和氮素利用效率^[18-19], 秸秆还田后也可提高玉米氮肥利用效率^[20], 人工增施 AMF 配施有机肥可驱动土壤氮素向植物氮高效利用的途径转化, 提高氮肥吸收率^[21], 在本试验中研究了 AMF 和 DSE 接种于植物后对绿肥的利用效率, 发现 L + D 处理下玉米对绿肥利用效率最为显著, 表明了 DSE 在促进氮素利用方面的潜力, Knapp 等^[22]研究也表现出 DSE 在促进植物营养方面的潜力。

目前, AMF 和 DSE 的联合应用效应研究较少, 二者之间是协同促进还是存在碳源或空间竞争尚不明确, 也有可能是从竞争到协同的关系。汪茜等^[23]发现 AMF 和 DSE 复合菌剂提高生姜株高以及产量, 根据 Monica 等^[24]的研究认为在植物中, DSE 和 AMF 与 P 的有效性和吸收密切相关。DSE 增加植物

根际 P 库, AMF 负责 P 向宿主的转移, 植物通过 DSE 和 AMF 共同定植协同调节生长发育。而本研究中发现, 同时接种 AMF 和 DSE 对玉米生长具有显著的抑制作用, 较 L + D 处理降低了玉米株高、干重、植物全氮含量、绿肥利用率, 但与 L + A 处理无显著性差异。Scervino 等^[25]研究发现, 当 AMF 侵染植物根系, 菌丝的发育会被 DSE 的分泌物所抑制, 不同分泌物浓度在植物不同生长期会对菌丝发育有不同程度的抑制影响。AMF 和 DSE 侵染和共生发展可能是两个独立的过程, 需要通过不同的实验来评价不同根系分泌物对 AMF 相互作用的影响^[26]。所以尽管本试验中 AMF 和 DSE 均成功侵染玉米, 但猜想由于 DSE 分泌物浓度可能抑制了 AMF 菌丝的发育, 从而使得复合菌剂对玉米生长产生一定抑制作用, 具体可开展对 DSE 分泌物浓度的研究来加以证明。

土壤中氮存在形式主要分为有机氮和无机氮,

且有机氮占绝大部分,植物能直接吸收利用的氮相对很少,主要为无机氮和少量有机氮^[26]。大量研究表明,接种 AMF 和 DSE 可以提高植物对氮元素的吸收利用^[27-28]。在本试验中发现,在接种真菌的三个处理中,均提高了植物对氮素吸收,从而导致土壤中剩余土壤全氮减少;并且接种真菌处理较 L 处理同时提高了土壤全氮和植物全氮的含量,说明接种真菌促进了植物对绿肥以及土壤中氮素的利用,并且同时可能降低了氮的淋溶或影响土壤氮硝化与反硝化过程,减少了接菌处理后土壤氮素的损失。研究发现,接菌处理提高了土壤有机质的含量,从而增强了土壤团聚体的稳定性,有利于提高土壤表层对 NO₃⁻-N 吸附固定,进而阻碍 NO₃⁻-N 向下部的移动^[29]。同时,本试验中测得三组接菌处理中有机质含量以及土壤硝氮含量高于 L 处理,与上述结论一致。另外,何广^[30]等指出 AMF 直接或间接降低硝化反硝化微生物活性来影响硝化反硝化过程,这两种情况均有可能降低土壤中氮素损失。本文通过接种 AMF 和 DSE 的组合,仅从宏观上研究了接菌对绿肥有一定的促进其分解利用的功能,但具体作用机制还需进一步研究。

4 结论

(1) 接种真菌处理较未接菌处理均提高了玉米株高、生物量,土壤全氮含量。接种真菌处理显著提高了土壤铵氮含量,硝氮含量无显著性差异;L + D 处理的植物全氮含量最高,土壤脲酶活性最高。

(2) 在植物对绿肥利用效率和氮有效转化率方面,接种链格孢菌 (*Alternaria* sp., DSE 处理) 和接种摩西管柄囊霉 (*Funneliformis mosseae*, F.M, AMF 处理) 有不同程度的促进作用。通过此次试验对比,接种 DSE 较接种 AMF 效果较好,有效提高了植物株高、干重、植物全氮、植物对绿肥利用效率和氮有效转化率等,为通过微生物技术提高绿肥加入土壤后的利用和促进氮素转化提供理论依据。另外,同时接种的具体影响和降解机制还有待进一步深入探究。

参考文献:

- [1] 常春丽,王盼盼,李金秋,等. 高寒地区不同绿肥的腐解特征及其对土壤养分的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(5): 260 - 263.
- [2] 杨文莹,孙露莹,宋凤斌,等. 陆地农业生态系统丛枝菌根真菌物种多样性研究进展[J]. 应用生态学报, 2019, 30(11): 3971 - 3979.
- [3] Wang Y, Wang M, Li Y, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nitrogen uptake of *Chrysanthemum morifolium* under salt stress[J]. Plos One, 2018, 7(4): 12181.
- [4] 贾艳艳,顾大路,杨文飞,等. 丛枝菌根真菌对还田麦秆分解及玉米生物量的影响[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(3): 612 - 617.
- [5] Lei C, Booker F L, Cong T, et al. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Increase Organic Carbon Decomposition Under Elevated CO₂[J]. Science, 2012, 337(6098): 1084.
- [6] 李春妹,李韶山. 入侵植物五爪金龙根系深色有隔内生真菌的侵染特征[J]. 菌物学报, 2019, 38(11): 1930 - 1937.
- [7] Vergara C, Araujo K E C, Alves L S, et al. Contribution of dark septate fungi to the nutrient uptake and growth of rice plants[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2017, 49(1): 67 - 78.
- [8] Narisawa K. The dark septate endophytic fungus *Phialocephala fortinii* is a potential decomposer of soil organic compounds and a promoter of *Asparagus officinalis* growth[J]. Fungal Ecology, 2017, 28: 1 - 10.
- [9] 高春梅,李敏,刘润进. AMF和DSE组合菌剂促生防线虫病效应[J]. 菌物学报, 2016, 35(10): 1208 - 1217.
- [10] 侯力峰. 三种荒漠植物深色有隔内生真菌物种多样性和耐盐性研究[D]. 河北大学, 2020.
- [11] Berch S M, Kendrick B. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae of Southern Ontario Ferns and Fern-Allies[J]. Mycologia, 1982, 74(5): 769 - 776.
- [12] Bremner J M, Tabatabai M. Use of an ammonia electrode for determination of ammonium in Kjeldahl analysis of soils[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1972, 3(2): 159 - 165.
- [13] Nelson D W. Total carbon, organic carbon and organic matter[J]. Methods of Soil Analysis, 1982, 9: 961 - 1010.
- [14] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [15] 贺学礼,高露,赵丽莉. 水分胁迫下丛枝菌根AM真菌对民勤绢蒿生长与抗旱性的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(4): 1029 - 1037.
- [16] Charlotte B, Corinne L, Julie F, et al. Plant growth promotion, metabolite production and metal tolerance of dark septate endophytes isolated from metal-polluted poplar phytomanagement sites[J]. Fems Microbiology Ecology, 2016, (10): 144 - 154.
- [17] 郭涛,罗珍,朱敏,等. 丛枝菌根真菌对玉米秸秆降解的影响及其作用机制[J]. 生态学报, 2014, 34(14): 4080 - 4087.
- [18] 姜佰文,牛煜,王春宏,等. 应用液体有机肥减施氮肥对玉米氮素利用效率及产量的影响[J]. 东北农业大学学报, 2020, 51(12): 24 - 31 + 40.
- [19] 李孝良,胡立涛,王泓,等. 化肥减量配施有机肥对皖北夏玉米养分吸收及氮素利用效率的影响[J]. 南京农业大学学报, 2019, 42(1): 118 - 123.
- [20] 邹文秀,韩晓增,陆欣春,等. 秸秆还田后效对玉米氮肥利用率的影响[J]. 中国农业科学, 2020, 53(20): 4237 - 4247.
- [21] 左明雪,孙杰,徐如玉,等. 丛枝菌根真菌与有机肥配施对甜玉米根际土壤氮素转化及氮循环微生物功能基因的影响[J]. 福

- 建农业学报, 2020, 35(9): 1012 – 1025.
- [22] Knapp D G, JB Németh, Barry K, et al. Comparative genomics provides insights into the lifestyle and reveals functional heterogeneity of dark septate endophytic fungi[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 6321.
- [23] 汪 茜, 宋 娟, 李冬萍, 等. 丛枝菌根真菌及深色有隔内生真菌对大田生姜生长效应分析[J]. *中国农学通报*, 2021, 37(6): 62 – 67.
- [24] Monica I, Saparrat M, Godeas A M, et al. The co-existence between DSE and AMF symbionts affects plant P pools through P mineralization and solubilization processes[J]. *Fungal Ecology*, 2015, 17: 10 – 17.
- [25] Scervino J M, Gottlieb A, Silvani V A, et al. Exudates of dark septate endophyte (DSE) modulate the development of the arbuscular mycorrhizal fungus (*AMF*) *Gigaspora rosea*[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2009, 41(8): 1753 – 1756.
- [26] 吴 巍, 赵 军. 植物对氮素吸收利用的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(13): 75 – 78.
- [27] 张学林, 李晓立, 何堂庆, 等. 丛枝菌根真菌对玉米籽粒产量和氮素吸收的影响[J/OL]. *作物学报*: 1 – 19[2021-04-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.s.20210301.1319.006.html>.
- [28] 滕秋梅, 张中峰, 徐广平, 等. 深色有隔内生真菌对镉胁迫下芦竹生长、光合和矿质营养的影响[J/OL]. *生态学杂志*: 1 – 13[2021-04-22]. <https://doi.org/10.13292/j.1000-4890.202106.007>.
- [29] 张 敏, 姚元林, 曾 科, 等. 配施有机肥减少太湖地区稻田土壤硝态氮淋失的机理研究[J]. *土壤*, 2020, 52(4): 766 – 772.
- [30] 何 广, 李 侠, 赵若桐, 等. 丛枝菌根真菌调控土壤氧化亚氮排放的机制[J]. *土壤学报*, 2021, 58(1): 23 – 30.

Nitrogen Conversion Rate of Maize after Inoculation with Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Dark Septate Endophytes

BI Yin-li^{1,2*}, ZHANG Jia-yu¹, WANG Kun¹, DU Shan-zhou³

(1. School of Earth Sciences and Surveying and Mapping Engineering, China University of Mining and Technology (Beijing), Beijing 100083, China; 2. School of Geology and Environment, Xi'an University of Science and Technology, Xi'an, 710054, China; 3. Shenhua Zhungeer Energy Co., Ltd, Ordos 017100, China)

Abstract: [Objective] Green manure is used as a biological fertilizer. How to improve plant utilization efficiency of green manure and nitrogen (N) conversion efficiency after adding soil has always been a hot research topic. The fresh alfalfa (*Medicago sativa*) was used as green manure and inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and dark septate endophytes (DSE), to improve plant utilization efficiency of green manure and promote N transformation. [Methods] Under greenhouse conditions, corn (*Zea mays L.*) was used as the test plant, fresh alfalfa (*Medicago sativa*) was used as green manure inoculated with AMF and DSE. The experiment included 4 treatments: green manure (L); green manure + AMF (L + A); green manure + DSE (L + D); green manure + DSE + AMF (L + D + A). [Results] AMF and DSE could simultaneously colonize maize plants. Both the inoculation fungus treatments significantly increased the plant height and dry weight of maize, and the L + D treatment had the best effect, with the plant height and biomass values of 86.25 cm and 41.893 g per pot, respectively. Compared with other inoculation treatments, L + D treatment had the most significant promoting effect on plant total N and green manure utilization efficiency, and the maximum values were 585.27 mg and 76.50%, respectively. And the soil nitrate N, ammonium N and urease activity were the highest under L + D treatment. Soil total N inoculated with AMF was significantly higher than that in the non-inoculated AMF treatment. Simultaneous inoculation of AMF and DSE has little inhibited on maize growth. [Conclusion] L + D treatment is slightly better than L + A treatment in terms of plant biomass and nutrient utilization, while double inoculation treatment needs further research to prove the synergistic or competitive relationship. It provides a theoretical basis for improving the N utilization efficiency and promoting the N transformation in soil.

Key words: Green manure; Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF); Dark Septate Endophytes (DSF); Plant use efficiency of green manure; Nitrogen conversion rate

[责任编辑: 刘轶飞]